...Medical Library

[Aus dem hygienischen Institut zu Jena.]

Ueber die Haltbarkeit humanisierter und animaler Lymphe.

Inaugural-Dissertation

der medicinischen Fakultät zu Jena

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medicin, Chirurgie und Geburtshülfe

vorgelegt

von

Ludwig Türcke
aus Altenburg, S.-A.

Jena.
Universitäts-Buchdruckerei G. Neuenhahn.
1897.

Genehmigt von der medicinischen Facultät zu Jena auf Antrag des Herrn Professor Dr. Gärtner.

JENA, den 27. März 1897.

Riedel,
d. Z. Decan d. med. Facultät.

Dem Andenken meines Vaters.

Ueber die Haltbarkeit humanisierter und animaler Lymphe.

Nachdem durch Ed. Jenners geniale Entdeckung bewiesen worden war, dass durch Uebertragung des echten, genuinen Kuhpockenstoffes auf den Menschen an diesem eine lokale Entzündung mit darauffolgender Narbenbildung hervorgerufen wurde, welche eine allgemeine Immunität des gesamten menschlichen Organismus gegen das Pockengift zur Folge hatte, wurde das bis dahin gebräuchliche Schutzverfahren, die Variolation, d. h. die Uebertragung von Pockenpustelinhalt von einem Menschen auf den anderen, allmählich verlassen. An ihre Stelle trat die Vaccination und zwar zunächst hauptsächlich die mit humanisierter Lymphe, später in gröfster Ausdehnung die mit animaler Lymphe. Sowohl bei der Abimpfung von Arm zu Arm, als bei der Abimpfung direkt vom Rind auf den Menschen bestand die Schwierigkeit, zu jeder gewünschten Zeit die genügende Menge Lymphe zur Verfügung zu haben. Daher ist denn das Bestreben, die Lymphe zu konservieren, fast so alt wie die Impfung selbst.

Zunächst bemühte man sich, die Lymphe ohne Zusätze in eine trockene Form überzuführen, was ohne Schwierigkeiten gelang. Die Aufbewahrung getrockneter Lymphe geschah auf mancherlei Art. Ursprünglich pflegte man, wie J. J. Bremer in seinem Werk: Die Kuhpocken (1804) schreibt, dazu eine Lanzette oder Impfnadel zu nehmen,

deren Spitze in eine reife Pockenpustel getaucht wurde, woraus dann das Pockenvirus in dünner Schicht antrocknete. Diese Art der Aufbewahrung verteuerte, besonders wenn ein so getränktes Instrument zur Versendung gelangte, die Impfung erheblich und ausserdem war sie schon deshalb unbequemer, weil mit einem solchen Instrument nur eine einzige Person geimpft werden konnte. Bei diesem Verfahren des Antrocknenlassens wurden goldene und silberne Impfnadeln bevorzugt, da sie nicht rosteten. Denselben Vorteil boten Impfnadeln von Elfenbein, Schildkrötenschale oder aus Federkielen und Dornen geschnittene. Die beiden letztgenannten waren am vorteilhaftesten, da wegen ihrer rauhen Oberfläche mehr Lymphe als wie bei den übrigen haften blieb. Statt der Impfnadeln tränkte man auch rohe Baumwolle, kleine Stückchen von Schwämmen oder einen feinen Haarpinsel mit Lymphe. Nachdem man die so erhaltenen Präparate einige Minuten hatte trocknen lassen, wurden sie in einer kleinen Glasröhre oder zwischen zwei Glasplatten verwahrt, die sorgfältig mit Wachs verstrichen, längere Zeit aufgehoben und bequem und mit ziemlicher Sicherheit versendet werden konnten. Sollten dann diese mit Lymphe getränkten Stoffe zu Impfungen verwendet werden, so löste man die ihnen anhaftende Lymphe mit Wasser oder sogar mit Speichel auf und impfte von dieser Lösung. Das sicherste Verfahren war derart, dass man mit Lymphe aus den am besten geratenen Schutzblattern recht gesunder Kinder einen einfachen, nicht drellierten Baumwollen- oder Leinwandfaden wiederholt, bis zu sechsmal, durchnässte und ihn vor jedesmaligem Eintauchen an der Luft ordentlich trocknen liess. Nachdem man die Spitzen des Fadens, soweit sie zwischen den Fingern gehalten waren, abgeschnitten hatte, steckte man ein Stück „von drei Zoll Länge“ unverzüglich in eine kleine, am unteren Ende zugeschmolzene Glasröhre, deren oberes Ende sorgfältig mit Wachs ver-

strichen wurde. Man wendete keinen Siegellack zum Verschliessen an, weil möglicherweise die von dem heissen flüssigen Siegellack dem Glase mitgeteilte Wärme die wirksamsten Bestandteile der Lymphe vernichten konnte. Die Glasröhre wurde alsdann mit Papier umwickelt, in einen Federkiel gesteckt und konnte nun leicht in einem Briefe verschickt werden. Durch das unverzügliche Einstecken in die Glasröhre und durch das vielfache und sorgfältige Umwickeln mit meistens schlechten Wärmeleitern wurde der Impffaden nach Möglichkeit vor Zutritt von Luft, Licht, Hitze und Kälte gesichert, alles Faktoren, die in mehr oder weniger hohem Grade geeignet sind, der Brauchbarkeit eines solchen Fadens Abbruch zu thun. Sollte die Konservierung eine längere als auf wenige Tage oder Wochen sein, so wurden die Glasröhren noch mit Wasserstoffgas gefüllt. Die auf diese Weise präparierten und konservierten Impffäden behielten ihre Wirksamkeit bis zu einem vollen Jahr. Ein derartig präparierter Faden war u. a. der erste Impffaden, der nach Deutschland kam und den die preussische Prinzessin Friederike, die Gemahlin des Herzogs von York, im Dezember 1799 von London nach Berlin schickte, wo er im Februar 1800 mit Erfolg verimpft wurde. Ein anderes, noch jetzt gebräuchliches Verfahren besteht darin, dass man die aus der Pustel austretende Lymphe zwischen zwei Glasplatten auffängt, eintrocknen lässt und die Ränder der Platten möglichst luftdicht verklebt. Die Lymphe wird vor dem Gebrauch mit Aqua destillata oder mit verdünntem Glycerin (1 : 2) aufgelöst. Im Petersburger Findelhause wurde derartig aufbewahrte Lymphe nach sechs Monaten mit schönstem Erfolge verimpft und der frühere Direktor der Berliner Impfanstalt Dr. E. Müller hat zwischen Glasplatten getrocknete, zehn Jahre alte, echte Kuhpockenlymphe, die von der holländischen Regierung zu Untersuchungszwecken nach Berlin geschickt war, mit ausgezeichnetem

Erfolge verimpft, nachdem er sie vorher mit verdünntem Glycerin aufgelöst hatte. Er giebt dabei dieser Art der Auflösung den Vorzug vor der mit Wasser oder mit Wasserdämpfen. Die am längsten auf diese Art mit Erfolg aufbewahrte Lymphe stammt von Graham Wein-Edinburg, der eine Lymphe von 1822—1842, also 20 Jahre hindurch, zwischen Glasplatten konserviert hat.

Es gab noch weitere Methoden der trockenen Aufbewahrung von Lymphe, die sich im Grunde genommen mit der oben erwähnten allerdings deckten, jedoch in der Art der Gewinnung eine Abweichung zeigten. Da nämlich oft von ängstlichen Müttern dem Impfarzt nicht gestattet wurde, die Pusteln zu öffnen, so wurde, um die Lymphe trotzdem zu gewinnen, dem Impfling vom fünften Tage nach der Impfung an ein Leinwandlappen um den Oberarm gelegt, so dass, wenn die Pusteln sich von selbst öffneten, die Lymphe in den Lappen floss. Man schnitt dann die betreffende Stelle mit einer kleinen, nicht getränkten Peripherie heraus, zog die Fäden auseinander und legte sie einzeln, wie oben beschrieben, in Glasröhren.

Ferner verwendete man auch den Schorf selbst zur Impfung. Hierbei waren jedoch mancherlei Vorschriften zu beachten. Er musste aus der ersten Lymphe, ja nicht aus dem Eiter gebildet worden sein, also höchstens bis zum neunten Tage nach der Impfung abgenommen und noch durchsichtig sein. Schorfe von dieser Beschaffenheit blieben, in einer Glasröhre verwahrt, „sehr lange“ wirksam.

Die vorhin besprochene Art der trockenen Aufbewahrung humanisierter Lymphe mittelst Lanzetten, Nadeln, Fäden u.s.w. wendet man heute nicht mehr an, sondern man trocknet vielmehr die Lymphe auf Glasplatten, zerstösst sie zu einem groben Pulver und füllt sie in kleine Fläschchen, die man luft- und wasserdicht verschliesst. Diese Lymphe hat ein

gelblich-weisses Aussehen und hält sich bis zu acht Jahren und darüber (L. Pfeiffer, Die Vaccination, 1884).

Die Konservierung der Lymphe in flüssiger Form ohne Zusatz liess man, wegen der sich dabei einstellenden Schwierigkeiten und Gefahren bald fallen, zudem trocknete die Lymphe, wenn sie, wie meistens, nur in geringer Menge vorhanden war und sofern der Verschluss nicht luftdicht hergestellt wurde, ziemlich schnell ein und wurde so zur Trockenlymphe, die zur Impfung stets erst noch einer Anfeuchtung mit Wasser oder Glycerin bedurfte, ein Verfahren, welches einen mehr oder weniger grossen Zeitverlust verursachte.

Flüssige Lymphe in grosser Menge zu erhalten, war schwer, schon wegen des verhältnismässig geringen Inhaltes der Pusteln bei den Kindern. Wollte man grössere Mengen flüssiger Lymphe haben, so blieb deshalb nichts übrig, als die Lymphe von mehreren Kindern zu vereinigen und man erhielt so eine Sammellymphe. Die Lymphe wurde 8 Tage nach der Impfung abgenommen und zwar so, dass man sie in ein sog. homöopathisches Gläschen fliessen liess, wie es bereits der Italiener Sacco gethan hatte. (L. Sacco, Trattato di vaccinazione, 1809). Auch verwendete man gebauchte Kapillarröhrchen nach Brettoneau, in welche die Lymphe aus den Pusteln von selbst aufstieg. Nun ergab sich aber aus den mit Sammellymphe vorgenommenen Impfungen ein grosser Uebelstand. Wenn nämlich bei diesen Impfungen irgend welche Anomalien des Verlaufes der Pusteln sich einstellten, so wusste man nicht, von welchem Impfling die Ursache dafür ausging. Die Verwendung dieser Sammellymphe gab man daher später auf und hob die gewonnene Lymphe von jedem einzelnen Impfling für sich auf. Auch eine Verordnung v. 6. April 1886 verbot für Preussen die Mischung der Lymphe von zwei oder mehreren Impflingen. Bei diesem Verfahren konnte man wenigstens einer

etwaigen Uebertragung von Krankheiten auf die Spur kommen.

Die besten Resultate in früherer Zeit bei der Aufbewahrung von flüssiger Lymphe hat der bereits oben erwähnte Italiener Luigi Sacco, weil. Impfarzt in Mailand, erzielt. Nach seinem äusserst interessant geschriebenen Trattato di vaccinazione, Milano 1809, bewahrte er die Lymphe in Tuben aus Glas auf, welche ein Lumen von $^1/_2$ Linie hatten, „wenn sie breiter wären, würde die Materie in Gährung geraten."

Diese möglichst luft- und wasserdicht verschlossenen Tuben legte er gewöhnlich in mit Quecksilber gefüllte Flacons. Die Resultate dieser Aufbewahrungsmethode beschreibt er mit den Worten: In tal maniera ho conservato la materia fluida per due anni diseguito e mantenne la sua attività; venendo il terzo, scemò di molto la sua efficacia, poiche innestata in due bambini con otto punture per ciascheduno; due sole produssero il loro effetto; la materia si era alquanto addensata ed aveva acquistato quella tenacità che sogliono prendere gli olii e le essenze. (Auf solche Art habe ich den flüssigen Stoff 2 Jahre hintereinander aufgehoben und erhielt seine Wirksamkeit; im Beginn des dritten verminderte sich seine Wirksamkeit bedeutend und als er dann auf 2 Kinder verimpft wurde mit 8 Stichen auf jedes, gingen nur 2 Pusteln auf. Der Stoff hatte sich etwas verdickt und jene Zähigkeit angenommen, welche Oelsorten und Essenzen anzunehmen pflegen.) Auch der trocken aufbewahrten Lymphe spricht Sacco eine Haltbarkeit von 2 bis 3 Jahren zu. Im Sommer zieht er die trockene Aufbewahrung vor. (Nei mesi estivi il metodo a secco è preferibile.)

Wir sehen somit, dass die Methoden der Aufbewahrung humanisierter Lymphe, die man früher ausschliesslich verwendete, verhältnismässig recht gute Erfolge hatten, wenn

man die Lymphe in trockenem Zustande ohne Zusatz konservierte. In flüssigem Zustande ohne Zusatz jedoch war die Haltbarkeit humanisierter Lymphe — abgesehen von Sacco's Verfahren — im ganzen eine ausserordentlich geringe. Ceely bemerkt allerdings in seinen: Observations of the variolae-vaccinae etc. Worcester 1840, dass es ihm gelungen sei durch kühle Aufbewahrung Lymphe in Kapillaren 3—7½ Jahre vollkommen wirksam zu erhalten und Bohn sagt in seinem „Handbuch der Vaccination, Leipzig 1875": „Eine gut aufgehobene flüssige Lymphe kann sich jahrelang tüchtig erhalten, ist aber gewöhnlich schon nach Monaten ein sehr zweifelhafter Stoff geworden; das Aufspeichern derartiger Lymphe für lange Zeit hat einen eingebildeten Wert."

Es ist daher sehr wohl zu verstehen, wie das Streben der Impfärzte dahin ging, Mittel zu erhalten, mit denen man die Lymphe, sowohl die humanisierte wie die später mehr und mehr in Aufnahme kommende animale möglichst lange konservieren könnte. Bei der Konservierung der Lymphe musste man zwei Punkte ins Auge fassen. Erstens war darauf zu sehen, dass man die Lymphe möglichst lange virulent erhielt und zweitens, dass man sie frei von allen fremden Beimischungen machte, die bei der Impfung eine Komplikation des Verlaufes veranlassen konnten. Mittel, den zuletzt genannten Zweck zu erreichen, gab es genug, nur litt bei ihrer Anwendung die Virulenz derartig, dass man die Lymphe nicht mehr zu Impfungen verwenden konnte. Ferner wollte man durch die Zusätze von Konservierungsmitteln zugleich die Menge der Lymphe vermehren und so neben der besseren Qualität auch eine grössere Quantität des so wichtigen Stoffes besitzen. Bei der Wahl der Zusätze zur Lymphe ging man von dem einfachsten und natürlichsten Mittel, dem Wasser, bis zu den stärksten antiseptischen Mitteln.

Eine Hauptregel beim Aufbewahren von Lymphe — sei es nun ohne oder mit Zusatz — war und ist die, dass man sich hüten muss, die Lymphe höheren Temperaturen auszusetzen. Nichts schadet der Lymphe mehr als grössere Wärme. Bei einer Erwärmung auf 52° C. tritt eine Vernichtung der wirksamen Keime ein. Ebenso ungünstig wirkt ein öfterer Wechsel der Temperatur, während eine konstante kühle Temperatur die Lymphe lange Zeit hindurch wirksam erhält. Nach Versuchen in Berlin (s. Hygien. Rundschau, 1891, S. 602 ff.) erzielte Glycerinlymphe nach dreitägigem Verbleiben in einer Temperatur von 37° C. bei Erstimpfungen nicht mehr volle Erfolge; andrerseits ergaben Versuche in Königsberg die vollständige Wirksamkeit der Tierlymphe, nachdem dieselbe 8 Wochen und darüber bei konstanter niedriger Temperatur von 6—8° R. im Eisschrank aufbewahrt worden war. In Hannover fand man, dass Lymphe, die $1^1/_2$ Jahr in einer Zigarrenkiste aufbewahrt war und hier Temperaturen von -20^0 bis $+30^0$ C. durchgemacht hatte, noch gut und wirksam war. Ein Teil dieser Lymphe war 8 Monate später, im Freien aufbewahrt, unwirksam, während ein anderer Teil, kühl aufbewahrt, noch nach $2^1/_2$ Jahren wirksam war, wie die an Menschen vorgenommenen Impfungen bewiesen. Dass diese Lymphe trotz der erwähnten hohen und niedrigen Temperaturen (-20^0 bis $+30^0$ C.), denen sie ausgesetzt war, sich doch anderthalb Jahre gut gehalten hat, braucht nicht zu sehr Wunder zu nehmen, da sie in einer Kiste, also einem schlechten Wärmeleiter verpackt, doch immerhin einer gleichmässigeren Temperatur ausgesetzt war, als die von der Witterung abhängigen extremen Grade glauben machen. Auch längere Reisen haben, wenn die Temperatur nicht zu erheblichen Schwankungen unterliegt und nicht zu hoch ansteigt, keinen besonders schädlichen Einfluss auf die Lymphe. So war z. B. die Lymphe, welche am 2. Oktober 1890 von Köln nach Kal-

kutta, Valparaiso, St. Thomas, Guatemala und Zanzibar geschickt und von dort wieder zurückgeschickt wurde, am 3. Dezember in Köln wieder verimpft worden und diejenige Lymphe, die in den drei zuletzt genannten Städten gewesen war, wurde noch als gut befunden; die von den übrigen Städten zurückgeschickte Lymphe war nicht mehr virulent. Auf den schädlichen Einfluss allzu hoher und niedriger Temperaturen nimmt daher auch das Gesetz Rücksicht. In den „Beschlüssen und Vorschriften der Sachverständigen-Kommission, genehmigt vom Bundesrate unter dem 18. Juni 1885. III. C. lautet der § 15: Die Lymphe ist vor einer Abkühlung bis auf den Gefrierpunkt und vor einer Erwärmung auf mehr als 50° C. zu schützen.

Hier muss noch ein anderer, allerdings strittiger Punkt erwähnt werden: der Einfluss des Lichtes auf die Lymphe. Jenner selbst erkannte einen längeren Einfluss des Lichtes auf die Lymphe als schädlich an und verschloss daher die zur Versendung kommende Lymphe in der oben beschriebenen Weise möglichst lichtdicht und mit schlechten Wärmeleitern. Bohn lässt dagegen, wie viele Andere, die Frage, ob Licht der Lymphe schädlich sei, offen, indem er sagt: „Da Niemand die Phiolen ungeschützt liegen lassen wird, so entbehrt die Einwirkung des Lichts auf die Lymphe der praktischen Bedeutsamkeit. Wissenschaftlich steht diese subtile Frage ganz offen, und es muss für eine theoretische Konstruktion (wenn nicht für etwas sehr Geringeres) gelten, wenn auf das gelbliche Glas der Phiolen von einer Seite her Gewicht gelegt wird".

Die bisher beschriebenen Massregeln konnten jedoch auf die Dauer dem immer mehr gesteigerten Bedürfnis nach einer guten, sicher wirkenden und längere Zeit haltbaren, unschädlichen Lymphe nicht genügen, zumal mit dem Aufkommen der animalen Lymphe die Erkenntnis sich Bahn brach, dass man es hier zwar mit einem hygienisch besseren

Material zu thun hatte, das aber, leider an Tenazität dem menschlichen Impfstoffe bedeutend nachstand. So wird aus Karlsruhe berichtet (Hygien. Rundschau. 1891): „dass die Tierlymphe an Wirksamkeit der Menschenlymphe nunmehr völlig gleich stehe, bezüglich der Haltbarkeit aber hinter derselben zurückbleibe; 2 Monate halte sie sich sicher."

Die Versuche, die Lymphe längere Zeit gebrauchsfähig zu erhalten, erstreckten sich im Anfang, wie es in der Natur der Sache lag, vor allem auf die Konservierung des humanisierten Stoffes, erst später auf den animalen. Betreffs der Konservierungsmethoden der Lymphe sei als ursprünglichste der Zusatz von Wasser erwähnt. Die Anwendung war derartig, dass man die aus den Pusteln tretende Lymphe mit einem Haarpinsel aufwischte und diesen dann in destilliertem Wasser abspülte. Die Menge des zur Verdünnung dienenden Wassers hatte natürlich auch ihre Grenzen; so beobachtete man, dass bei Zusatz von 1000 Teilen Wasser die Lymphe nach ca. vier Tagen ihre Wirksamkeit eingebüsst hatte. Der auf die Verwendung des Wassers folgende Zusatz von Säuren hatte zwar die gewünschte antiseptische Wirkung, zerstörte jedoch rapid die Virulenz der Lymphe. Nach L. Pfeiffer, Die Schutzpockenimpfung, genügte z. B. schon 1 ‰ Essig- oder Salzsäurelösung, um die Wirksamkeit sofort zu vernichten. Dagegen ergaben Zusätze von gleichen Mengen von 3 % Carbolwasser oder von $^1/_3$ % Salicylsäurewasser oder von 3,5 % Borwasser oder von 2 % Thymollösung fast dieselben Erfolge wie unverdünnte Lymphe. Bei einer Steigerung des Prozentgehaltes der Lösungen jedoch, wenn man anstatt 3 % z. B. 5 % Carbolwasser anwendet, tritt eine Vernichtung der Wirksamkeit der Lymphe ein. Nachdem durch den früheren Leiter des Impfinstitutes in Berlin, Dr. Ed. Müller, in seiner Schrift: „Ueber Pockenimpfung und über die Bedeutung der Glycerinlymphe (1866)" auf den konservierenden Einfluss des Glycerins aufmerksam

gemacht worden war — dessen Vermischung mit Lymphe unten als Glycerinlymphe noch einer besonderen Besprechung unterzogen werden soll — setzte man zu vielen der oben genannten Antiseptika ausserdem noch Glycerin hinzu. So wurde, um nur einige Beispiele zu erwähnen, die Lymphe in Cannstatt aufgehoben in einer Lösung von:

Acid. salicyl. 0,2
Glyc. puriss.
Aqua dest. aa 25,0.

In Bremen bediente man sich folgender Lösung:

Acid. salicyl. 0,25
Glycerin
Aqua dest. aa 50.

Versuchsweise wurde auch eine Mischung verwendet von:

Thymol 0,1
Spirit. vini 0,5
Glycerin 100.

Fast ebenso wenig wie durch das Glycerin wird die Wirksamkeit der Lymphe beeinträchtigt durch konzentrierte Glaubersalzglycerinlösung und durch 30 % Spirituszusatz (L. Pfeiffer). Nach Versuchen in Weimar hielt sich eine Verreibung mit 30 % Spiritus 14 Tage lang wirksam. Auch wurde hier versuchsweise eine Konservierung mit dicker Zuckerlösung und mit Honig ausgeführt. Dieselbe hat aber nur auf etwa zwei Wochen gute Resultate ergeben; nach dieser Zeit war der Impfstoff unwirksam. In der Konserve selbst hatten sich nach sechs Monaten Fäulnis oder sonstige Veränderungen nicht eingestellt. Die Thymollymphe hat eine verhältnismässig gute Haltbarkeit; so hat Dr. Risel (Halle a. S.) Thymollymphe (1 Teil Kinderlymphe mit 1 Teil einer 1 % wässerigen Thymollösung gemischt) in Kapillaren

aufbewahrt, noch nach 26 Monaten wirksam gefunden. Auch bei dem Verhältnis 1 Lymphe : 2 Thymolwasser wirkte die Lymphe noch nach sechs bis acht Wochen. Andrerseits wurden die Behauptungen: durch Thymol solle auch eine desinfizierende Wirkung hervorgerufen. Zersetzungen der Lymphe und den phlegmonösen Erscheinungen nach der Impfung vorgebeugt werden, durch die Untersuchungen Friedländers (s. Med. statist. Mitteilungen aus d. kaiserl. Gesundheitsamt, 1884) nicht in allen Fällen bestätigt. Dieser fand ferner, dass die Lymphe durch Zusatz von Sublimat im Verhältnis 1 : 2000 nicht alteriert, aber vor Zersetzung geschützt werde. In Leipzig angestellte Versuche, statt eines Zusatzes von Salicyllösung einen solchen von einer 2 % Lösung von kohlensaurem Natron zu machen, fielen ungünstig aus, da die so behandelte Lymphe sehr schnell ihre Wirksamkeit einbüsste. (Siehe Med. statist. Mitteilungen a. d. kaiserl. Gesundheitsamt, 1887, II.)

Alle diese Konservierungsmethoden, mochten sie nun grössere oder geringere Vorteile bieten, wurden in den Schatten gestellt durch die bereits oben erwähnte von Müller und Feiler in Berlin im Jahre 1866 zuerst angewendete Konservierung mittelst Glycerins allein. Der Zusatz von reinem Glycerin, dem noch Wasser zugefügt wird, findet jetzt fast allgemein Anwendung, da es noch von keinem anderen Mittel übertroffen worden ist. Die Lymphe verteilt sich darin nicht vollständig, deshalb muss vor dem Gebrauch die Glycerinlymphe ordentlich durcheinander geschüttelt werden. Das Mischungsverhältnis ist nach Feiler in der Regel 1 : 1 oder 1 : 2. Das Glycerin ist dabei zur Hälfte mit Wasser verdünnt, da es in dieser Verdünnung leichter in die Kapillaren aufgenommen wird und die Menge vermehrt. Mit der Verdünnung der Lymphe kann man, ohne ihrer Wirksamkeit zu schaden, bis zum Zehnfachen des Volumens gehen. Dr. Ed. Müller, dessen Assistent

Feiler gewesen war, gab später das Maass der Verdünnung nicht mehr in dieser Höhe 1 : 10 an, sondern setzte es nach einigen damit gemachten schlechten Erfahrungen fast um die Hälfte herab. (Ueber Pockenimpfung und über die Bedeutung der Glycerinlymphe von Dr. Ed. Müller, Berlin 1866.) In einem gewissen Gegensatze hierzu stehen die in neuester Zeit gemachten Erfahrungen. Dr. Schulz, Direktor des Impfinstitutes zu Berlin, hat bei Impfungen mit einer frischen 2000fachen Verdünnung von animaler Lymphe noch Schnitterfolge bei Erstimpflingen erzielt, allerdings mit der Beobachtung, dass sich diese starken Verdünnungen sehr bald abschwächen. (Bericht über die Thätigkeit der von dem Herrn Minister der geistlichen, Unterrichts- und Medizinal-Angelegenheiten eingesetzten Kommission zur Prüfung der Impfstofffrage. Von Dr. P. Frosch.)

Es sind diese Erfolge um so merkwürdiger, als die dabei verwandte Lymphe als Tierlymphe nicht die grosse Haftbarkeit besitzt wie die humanisierte Lymphe, welche Feiler bei seinen Versuchen meistens verwendete. Die erwähnten hohen Verdünnungen sind selbstverständlich nur als Ausnahmen anzusehen; als Grenze der Verdünnung, die der Arzt in der Praxis nicht überschreiten soll, wenn er noch sichere Erfolge haben will, ist von Dr. Freyer (Stettin) eine zehn- bis höchstens zwanzigfache angeraten worden, also ungefähr dieselbe, welche bereits 1866 Müller und Feiler aufgestellt haben. Aber nicht nur zum Konservieren, sondern auch zum Auflösen von anders aufbewahrter Lymphe eignet sich das verdünnte Glycerin in vorzüglicher Weise. Ferner verdient, wie Müller schreibt, die Glycerinlymphe aus folgendem physiologischen Grunde den Vorzug vor der reinen Lymphe: „da sie nämlich nach der Impfung längere Zeit flüssig bleibt und nicht so schnell trocknet wie reine Lymphe, somit leichter resorbiert werden kann, ist ihre Wirkung eine sicherere. Der Grund dafür ist der,

dass durch das Glycerin das Haimatokrystallin des beim Impfen hervortretenden Blutes gelöst, mithin die Gerinnung des Blutes sehr verzögert wird, so dass die Lymphe sich frei ihren Weg suchen kann, während die reine Lymphe mit dem Blute eintrocknet und zwar grösstenteils auf der Hautoberfläche.“ Nach den heutigen Ansichten dürften allerdings diese Sätze wohl kaum als eine weitere Begründung der Vorzüge der Glycerinlymphe anzusehen sein. Ist es doch ein bekanntes Experiment verschiedener Autoren, besonders Bousquets, dass sie sofort nach vorgenommener Impfung den Impfstoff mit Tüchern und Wasser wegzuwischen suchten und trotz der ausserdem unverzüglich vorgenommenen Anwendung von Desinficientien und Aufsetzen von Schröpfköpfen auf die betreffenden Stellen es nicht verhindern konnten, dass die Impfung dennoch vollkommen genügende Resultate lieferte, wohl der beste Beweis für die ausserordentlich schnelle Aufnahme des Pockenvirus in den menschlichen Organismus.

Die Glycerinlymphe war im Anfang humanisierte, später auch animale. Die ursprüngliche Methode Feilers, der die aus den angestochenen Pusteln hervortretende Lymphe mit einer breiten Lanzette auffing und dann sofort in einem Uhrschälchen mit verdünntem Glycerin mischte und die Mischung in kleinen Fläschchen oder Kapillaren aufhob, hatte mit der Zeit von den verschiedenen Praktikern verschiedene Abänderungen erlitten. In Halle z. B., wo man eine Zeit lang die Herstellung des Impfstoffes als Glycerinemulsion anstrebte, verliess man dieses Verfahren und ging dazu über, statt des officinellen Glycerins mit geringem Wasserzusatz Sarg'sches Glycerin mit $^1/_3$ Teil destillierten Wassers verdünnt zu verwenden. Dieses Sarg'sche Präparat ist ein dreifach destilliertes, nicht wie gewöhnlich mit Aqua destillata, sondern mit halbprozentigem Salicylwasser verdünntes Glycerin, das wegen seiner besonderen Reinheit

auch noch von anderen Anstalten benutzt wird. Eine gute Mischung ist ferner die von Schenk-Alzey, der mit dem Glycerin noch Natr. sulf. cryst. (0,2 g auf 10 g Glyc.) verbindet und derartiges Glycerin der Lymphe im Verhältnis von $^1/_3$—1 : 1 zusetzt. Bei diesem Verfahren wurden Kapillaren noch nach einem Jahre klar und wirksam befunden (L. Pfeiffer, Vaccination).

Es ist nun nicht zu verwundern, dass bei den vielen verschiedenen Herstellungsweisen der Glycerinlymphe — die alle aufzuzählen hier zu weit führen würde — ebensoviele verschiedene Urteile über ihre Güte und Haltbarkeit gefällt worden sind. War schon das Material selbst, das verwendete Glycerin in den einzelnen Impfanstalten verschieden, so wichen die Methoden der Mischung, die Menge des zugesetzten Stoffes, die Güte des Impfstoffes so bedeutend von einander ab, dass es unmöglich war und ist, bestimmte Resultate und Regeln für die Haltbarkeit der Glycerinlymphe aufzustellen. Was z. B. den Impfstoff, die animale Lymphe betrifft, so hängt die Dauer der Haltbarkeit unter anderem erfahrungsgemäss sehr von dem Gesundheitszustand der Tiere während der Vaccination und Incubation ab. So hat sich ergeben, wie z. B. aus Halle berichtet wird (Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamt 1889, Bd. V), dass die Güte der Lymphe von der ungestörten Verdauung der Impftiere während der Entwickelung der Pocken sehr abhängig sei. Im Sommer bekommen nun die Tiere leicht Durchfälle und deshalb ist es nicht indiziert, die Impfung der Tiere während der heissen Jahreszeit vorzunehmen. Und in Dresden hat sich gleichfalls gezeigt, dass die Lymphe von sechs der acht an Durchfall erkrankten Tiere eine ganz beträchtlich verminderte Haltbarkeit aufwies. Es wäre hierbei vielleicht zu überlegen, ob nicht weniger die Durchfälle selbst, als vielmehr die durch sie mehr oder weniger vergrösserte Unreinlichkeit des Lagers eine verschlechternde

Wirkung auf die Lymphe auszuüben im Stande ist. Auch das Alter der Tiere ist von Einfluss auf die Güte der Lymphe, denn die von ganz jungen Tieren gewonnene Lymphe bewahrt ihre Wirksamkeit nur sehr kurze Zeit, höchstens drei bis vier Wochen (Arbeiten aus d. kaiserl. Gesundheitsamt, 1893, Oppeln). Ob die Art der Impfung und der Abimpfung, wobei eine gründliche Desinfizierung der Haut bis jezt immer betont wurde, von wesentlichem Einfluss auf die Beschaffenheit der Lymphe ist, lässt sich nach den neuesten Untersuchungen kaum noch behaupten (vgl. Bericht von P. Frosch).

Es muss hier noch auf ein Verfahren hingewiesen werden, das die Wirksamkeit der Lymphe bedeutend abzuschwächen im Stande ist. Man hatte geglaubt, durch Filtrieren der Lymphe ihr eine grosse Menge unreiner und für die Impfung schädlicher Beimischungen nehmen und sie in etwas konzentrierterer Form darstellen zu können. Bald jedoch zeigte sich, dass durch öfteres Filtrieren die Lymphe vollkommen wirkungslos wurde. Dr. Keber-Danzig veröffentlichte 1854 die von ihm gemachte Entdeckung, „dass eigentümliche Körnchenzellen, freie Kerne und Moleküle durch Verimpfung als Träger des Contagiums erkannt worden seien“. Er wies ferner durch Filtration der Lymphe und durch Impfversuche nach, dass, je länger die Lymphe filtriert und so aufbewahrt werde, die Körnchen seltener würden und mit der Zeit ganz verschwänden, so dass die Wirksamkeit der Lymphe gleichfalls auf Null reduziert würde (s. Germann, Histor. kritische Studien über den jetzigen Stand der Impffrage, Leipzig 1875). Und im Jahre 1868 impfte Chauveau (Comptes rendus de l'Académie des sciences), welcher Experimente in derselben Richtung unternahm, das im Filter Zurückgebliebene mit vollem Erfolg, während das Filtrat wirkungslos blieb. Allerdings fand er, dass die Lymphe nach einmaligem Filtrieren noch

wirksam war, aber bei mehrfachem Filtrieren zusehends an Virulenz Einbusse erlitt. Unter allen Umständen ist es demnach möglichst zu vermeiden, die Lymphe einer Filtration zu unterziehen.

Wie nun die Beschaffenheit des Impfstoffes auf die Haltbarkeit der Glycerinlymphe von wesentlichem Einfluss ist, so ist andererseits die Qualität des Glycerins absolut nicht gleichgültig. Selbstverständlich muss das zur Konservierung der Lymphe verwendete Glycerin rein sein, auch darf es nicht von zu dicker Konsistenz sein, da sonst das Füllen der Mischung auf Haarröhrchen Schwierigkeiten darbietet. Ferner wurde durch Versuche in Berlin (Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamt, 1891, Bd. 7) ermittelt, dass Glycerin von hohem spezifischen Gewicht einen schädlichen Einfluss auf die Lymphe ausüben kann. Der beste Prozentgehalt, bei dem der fertige Impfstoff die grösste Widerstandsfähigkeit hat, ist nach diesen Versuchen eine Lymphe von 50 % Glycerin, 25 % destilliertem Wasser und 25 % abgeschabten Impfstoffe. Zu ähnlichen Resultaten haben nach dem Bericht von Frosch die neuesten Untersuchungen geführt. Frosch erwähnt in dem Abschnitt über „Die Methoden zur Verbesserung der Lymphbeschaffenheit, insbesondere zur Verringerung und Beseitigung des Bakteriengehalts der Lymphe“, dass die Schnelligkeit des Absterbens der Bakterien in der Lymphe von dem Glyceringehalte abhängig sei und dass unter sonst gleichen Umständen dasselbe schneller bei einem Gehalt von 60 % als von 50 % erfolge. Eine 60 % Glycerinlymphe sei nach fünftägigem Aufenthalt im Brutschrank noch wirksam und nahezu keimfrei.

Es bedarf an dieser Stelle eines Hinweises auf die Thatsache, dass die Lymphe nicht nur der Träger eines spezifischen Virus sondern auch der Nährboden für viele Mikroorganismen ist, die zum Glück für die Impfung meist nicht

pathogene sind. L. Pfeiffer sagt in: Die bisherigen Versuche zur Reinzüchtung des Vaccinecontagiums etc., Zeitschrift für Hyg., 1887, III: „Aus der langen Reihe von Untersuchungen hat sich als Ergebnis herausgestellt, dass die Lymphe, wie wir sie heute beim Impfgeschäft gebrauchen, ein ausgezeichneter Nährboden für sehr viele Spaltpilze und, auch bei reinlichster und sorgsamster Präparation, ein Gemisch von Pilzen ist, die sich bei ihrem Wachstum um die in derselben enthaltenden Nährsubstanzen streiten, und, wie auf den Kulturplatten, sich gegenseitig überwuchern und eventuell vernichten. In der Rivalität der konkurrierenden Arten behält, soweit die Erfahrungen des Impfgeschäftes hier mitsprechen dürfen, das Vaccinecontagium sehr leicht und eventuell längere Zeit die Oberhand über die sich an seine Fersen heftenden Sprosspilze, Bacillen und Mikrokokken.“ Die eben erwähnten, von Frosch mitgeteilten Versuche haben dies wiederum bestätigt, wobei allerdings zu bemerken ist, dass die Gegenwart des Glycerins einen wesentlichen Einfluss ausübt. Seitdem der desinfizierende Einfluss des Glycerins bekannt geworden ist, hat man auch von dem Zusatz antiseptischer Mittel zur Lymphe, auf deren Nutzlosigkeit schon früher von mehreren Praktikern hingewiesen war (Pfeiffer, Reissner u. a.), Abstand genommen. Auch die Behörden haben hierauf Rücksicht genommen; nachdem durch eingehendere Versuche über diesen Gegenstand besonders von Freund und Pott (Die animale Vaccination von Dr. M. B. Freund, Breslau) erwiesen war, dass durch Zusatz von Antisepticis zur Lymphe, wie: Carbolsäure (bis 4 %), Thymol (0,1 %), Borsäure (3,5 %), Salicylsäure (0,3 %), Sublimat (0,05—0,1 %) die Impfkraft des specifischen Vaccineerregers sehr beeinträchtigt werde, während andererseits der Zersetzung hindernde Wert dieser Mittel sehr zweifelhaft sei, wurde in Deutschland der Zusatz dieser Mittel behördlicherseits untersagt (vergl. Dr.

M. Schulz, Impfung, Impfgeschäft und Impftechnik, Berlin). Demgegenüber ist in letzter Zeit der desinfizierende Einfluss des Glycerins mehr und mehr betont worden. So hat auf der „Versammlung deutscher Aerzte und Naturforscher in Frankfurt a. M. 1896“ Dr. Chalybaeus, Leiter der Impfanstalt in Dresden, auf diese Thatsache hingewiesen; zudem wies Chalybaeus nach, dass bei genügend langem Konservieren der Lymphe in Glycerin sich eine Art Selbstreinigung der Lymphe vollzöge, die um so gründlicher würde, je länger man die Konserve stehen liesse. Auf diese Selbstreinigung wird Verfasser weiter unten nochmals eingehen; hier sei vorläufig nur erwähnt, dass er sie auf Grund der vorgenommenen Untersuchungen durchaus bestätigen kann.

So einstimmig gegenwärtig die Urteile über die Nutzlosigkeit antiseptischer Mittel und über den Wert des Glycerins bei der Konservierung der Lymphe lauten, so verschieden waren über den zuletzt genannten Punkt die Meinungen, als die Glycerinlymphe bekannter wurde; besonders über die Haltbarkeit der neuen Mischung gingen die Urteile vielfach auseinander. Die in den ersten Jahren nach der Müller-Feiler'schen Entdeckung veröffentlichten Zeitangaben über die Haltbarkeit der Glycerinlymphe umfassen so verschiedene Zeiträume, sind derartig sich widersprechende, dass es nicht im entferntesten möglich ist, auch nur ein Durchschnittsmaass aus denselben zu erhalten. Während z. B. Müller-Feiler, denen als Erfindern der Glycerinlymphe und bei ihrer peinlich sauberen Herstellung des Präparates wohl am meisten Vertrauen zu schenken ist, berichten, dass sie zwei Jahr alte Glycerinlymphe mit bestem Erfolge verimpft und dann den Impfstoff im heissen Sommer nach Rio grande verschickt hätten, wo er zwei Monate später noch völlig wirksam angelangt sei, so folgern andere Impfärzte, die sich auch mit der Herstellung von Glycerin-

lymphe beschäftigten, dass die neue Erfindung vollkommen wertlos sei, da sich die Mischung höchstens acht bis vierzehn Tage halte, während die unvermischte Lymphe viel länger wirksam konserviert werden könne. Die ursprüngliche Methode der Konservierung, nach Müller-Feiler, war folgende: die aus den angestochenen Bläschen heraustretende Lymphe wird mittelst einer breiten Lanzette aufgefangen und auf ein Uhrschälchen gebracht. Ist die genügende Menge von mehreren Kindern abgenommen, so wird reines, halb mit destilliertem Wasser verdünntes Glycerin zugetröpfelt im Verhältnis 1 : 2 oder 1 : 1 und das Ganze dann sorgfältig durcheinander gemischt. Aufbewahrt wurde das Gemisch in kleinen Fläschchen mit Korkstöpseln oder in mit Siegellack verschlossenen Kapillaren. Aus einer solchen von Feiler selbst noch angelegten grösseren Sammlung hat Pfeiffer-Weimar noch nach zehn Jahren mit gutem Erfolge geimpft (L. Pfeiffer, Vaccination, 1884).

Allmählich brach sich denn auch die Erkenntnis, dass man es in der Glycerinlymphe mit einem vorzüglichen, unter Umständen — wie bei Massenimpfungen — geradezu unersetzlichen Präparat zu thun habe, Bahn und bereits im Jahre 1871 konnte die preussische Regierung, auf Grund genügender Informationen, die Anwendung der Glycerinlymphe allen Impfärzten anraten. Seit dieser Zeit ist ihr Gebrauch ein allgemeiner geworden. Als man dann anfing animale Lymphe zu verwenden, wurde auch diese zur Glycerinlymphe gemacht. Bei den jetzt mehr übereinstimmenden Methoden der Herstellung der Glycerinlymphe ist man denn auch betr. der Haltbarkeit des animalen mit Glycerin versetzten Impfstoffes zu weniger sich widersprechenden Resultaten gelangt, obwohl die angegebenen Zahlen bisweilen noch recht bedeutende Zeitdifferenzen erkennen lassen. Die schon früher betonte grössere Haltbarkeit der unvermischten humanisierten

vor der animalen Lymphe macht sich auch bei der Glycerinkonserve geltend.

Die Zeitangaben über die Haltbarkeit der animalen Glycerinlymphe, die den „Medizinalstatistischen Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt in Berlin“ entnommen sind, bringen denn auch nirgends so grosse Zeiträume, wie wir sie bei der humanisierten Lymphe gefunden haben, z. B. zehn oder gar 20 Jahre. Es würde in der That zu weit führen, wollte man hier sämtliche in jenen Mitteilungen gemachte Angaben einfach wiedergeben; es mögen hier nur die Grenzen angegeben werden, die bis jetzt ermittelt sind. Die längste dort angegebene Zeitdauer, innerhalb deren sich animale Glycerinlymphe virulent und zur Impfung geeignet hielt, belief sich auf 28 Monate. Von den 11 mit dieser aus dem Jahre 1891 stammenden Lymphe mit 55 Schnitten geimpften Erstimpflingen hatten 9 Impflinge 11 kleine und verkümmerte Pusteln. Ueber Impfungen mit dieser Lymphe bei Wiederimpflingen liegen keine Angaben vor; dagegen war eine mit Lymphe von der Frankenberger Anstalt aus dem Juni 1892 in der Zeit vom 3. Mai bis 22. Juni 1893 an 231 Erst- und 4 Wiederimpflingen vorgenommene Impfung erfolgreich mit Ausnahme von 5 der Ersteren.

Es wird hier das Verhalten der Lymphe bei Erstimpfungen und Wiederimpfungen besonders betont, weil es bekannt ist, dass dieselbe Lymphe, auf Erstimpflinge verimpft, oft ganz andere Resultate ergiebt als bei der Impfung auf Wiederimpflinge. Es kommt z. B. vor, dass eine Lymphe auf Erstimpflinge verimpft als virulent anerkannt wird und dennoch bei Wiederimpflingen nur eine Entzündungsreaktion hervorruft, oder es kann auch der umgekehrte Fall eintreten, dass dieselbe Lymphe bei Erstimpflingen kein Resultat oder höchstens eine geringe Entzündung zeigt, während bei Wiederimpflingen eine heftige Entzündung mit wenn auch nur unvollständiger und verkümmerter Pustelbildung wahrge-

nommen werden kann. Diese verschiedenen Reaktionen auf den gleichen Impfstoff beweisen, dass nur individuelle Disposition der Grund für die verschiedenen Resultate sein kann, eine Thatsache, die auch von Dr. Freyer (Stettin), nach dem Bericht von Frosch, durch die Wahrnehmung konstatiert wurde, dass derselbe Impfling auf verschiedene „reizlose“ und „stark reizende“ Lymphsorten immer ganz gleichmässig reagierte. Für die Güte der Lymphe muss natürlich ihr Verhalten bei den Erstimpfungen massgebend sein, da der noch nicht immunisierte Körper allein im Stande ist, eine genaue und zuverlässige Reaktion auf ein in ihn eingeführtes Virus zu geben. Die Reaktion, die bei Wiederimpflingen auftritt, kann somit, wenn sie nicht ganz unzweifelhaft in mindestens einer deutlich wahrnehmbaren Pustel besteht, noch nicht als endgültiges Kriterium für die Virulenz des zur Impfung verwendeten Stoffes angesehen werden.

Eine untere Grenze für die Haltbarkeit der Lymphe anzugeben, macht insofern Schwierigkeiten, als die Gründe für eine sehr geringe Tenacität natürlich sehr verschieden sein können. Im allgemeinen aber kann man annehmen, dass bei guten Vorsichtsmassregeln die animale Glycerinlymphe sich mindestens 14 Tage bis 3 Wochen sicher hält. Voigt-Hamburg (Der Erfolg mit der animalen Vaccine in der Hamburger Impfanstalt, Leipzig 1879) bewahrte die animale Lymphe zwischen Glasplatten mit Paraffinverschluss auf, während er die humanisierte Lymphe in Röhrchen, unvermischt mit Glycerin, aufhob. Er sagt in dem genannten Bericht, dass zwar anderswo die Lymphe in Röhrchen oder auf Stäbchen aufbewahrt werde, aber „ohne dass sich eine wesentliche Differenz zu Gunsten der einen oder anderen Konservierungsart hätte feststellen lassen“. Die Dauer der Haltbarkeit dieser Lymphe wird auf 3—4 Monate angegeben. Für öffentliche Impfungen sollte, nach Voigt, Lymphe nicht

länger als 14 Tage und in der Regel keine solche, die sechs mal 24 Stunden nach der Impfung vom Kalbe entnommen wäre, aufgehoben werden. Dem gegenüber steht die Erfahrung von Dr. Chalybäeus (Dresden), der, wie er auf der bereits erwähnten „Versammlung deutscher Aerzte und Naturforscher in Frankfurt a. M. 1896“ mitteilte, Lymphe im Alter von 3—4 Monaten verschicke und stets ausgezeichnete Resultate damit erreicht habe. Eine im Vergleich zu ihrer Verdünnung sehr lange Haltbarkeit hat nach den Erfahrungen von Vanselow (Köln) eine Lymphe gezeigt, die um das 50fache verdünnt 3 Monate lang unverändert und gut geblieben ist (Bericht von Frosch); es wird jedoch hierbei nicht erwähnt, ob die Lymphe im Eisschrank aufbewahrt wurde oder nicht.

Um genauere Grenzen für die Dauer der Haltbarkeit der Lymphe, oder besser gesagt, einer Lymphsorte zu ermitteln, gehören, abgesehen von den selbstverständlich gleichen Bedingungen, unter denen die einzelnen Röhrchen, Platten, Fläschchen oder Stäbchen aufgehoben werden, in erster Reihe sorgfältige, in gleichen Zeiträumen vorgenommene Untersuchungen. Nur so ist es möglich, den Zeitpunkt näher zu bestimmen, in welchem ein Nachlassen bez. Aufhören der Virulenz des Impfstoffes eintritt. Um derartige Versuche längere Zeit hindurch ausführen zu können, bedarf man allerdings einer grösseren Menge Lymphe.

Wie bereits oben erwähnt, hatte Feiler eine grössere Sammlung humanisierter Lymphe und zwar aus den Jahren 1870—1885 angelegt Diese Sammlung gelangte in den Besitz des Herrn Geheimen Medizinalrat Dr. L. Pfeiffer in Weimar, der sie im Jahre 1896 dem hygienischen Institut in Jena in entgegenkommendster Weise zur Verfügung stellte. Dort wurde die Lymphe auf Anregung des Herrn Professor Gärtner vom Verfasser einer genaueren Unter-

suchung betreffend ihrer Virulenz und ihres Gehaltes an Bakterien unterzogen.

Die Sammlung bestand zum grösseren Teile aus mit Glycerin versetzter Lymphe, zum kleineren Teile aus trockener Lymphe; sie war aufbewahrt teils in mit Korken verschlossenen Fläschchen, von denen nur wenige mit Siegellack noch sicherer gegen den Zutritt der äusseren Luft geschützt waren, teils hatte man sie in Kapillaren aufgehoben, die gleichfalls an beiden offenen Enden einen Verschluss durch Siegellack erhalten hatten. Auf den Korken standen stets die Zahlen der Jahre, in welchen die Lymphe eingefüllt worden war. Oefters befanden sich ausser einem näheren Datum auch noch kurze Angaben über die Qualität der Lymphe auf den Korken, wie z. B. gut, mässig, 8fach filtriert, erfolglos u. s. w. Die Kapillaren waren entweder durch Papierblättchen gesteckt, auf denen sich dann die betreffenden Angaben befanden oder sie lagen in kleinen Pappschachteln. Das Mischungsverhältnis der Glycerinlymphe war gleichfalls mit angegeben und betrug entweder 1 : 1 oder 1 : 2. Zur Verfügung standen insgesamt 41 Fläschchen mit Glycerinlymphe, 7 Fläschchen mit trockener Lymphe und 152 Kapillaren.

Die Farbe der Lymphe war in den meisten Fällen eine hellgelbe, doch kamen auch dunklere Sorten vor; so hatte z. B. die mit „8fach filtriert“ bezeichnete Lymphe eine tiefdunkle rotbraune Färbung. Diese Farbenunterschiede fanden sich jedoch nur bei der in den Fläschchen aufbewahrten Lymphe, während die in den Kapillaren konservierte Lymphe eine fast bernsteingelbe, helle, gleichmässige Färbung besass. In beinahe allen Fällen aber war die Lymphe vollkommen durchsichtig und frei von Trübungen. Unter den Kapillaren waren viele, in denen die Lymphe in der Nähe der Enden Schimmelpilze zeigten, während alle Fläschchen frei von Schimmelpilzen waren. Wahrscheinlich ist nur der mangel-

haft ausgeführte Verschluss mit Siegellack die Veranlassung zur Schimmelbildung gewesen. Die Reaktion der Lymphe war mit einer Ausnahme — es handelte sich wieder um die mit „8fach filtriert“ bezeichnete, die sich als alkalisch erwies — in allen 41 Flaschen eine saure. Die teils mit Glycerin, teils mit Aqua destillata bewirkten Auflösungen der trockenen Lymphe reagierten trotz 2- bis 6mal 24stündigem Stehenlassens neutral. Im hygienischen Institut stand die Lymphe im Keller, über den früheren Aufbewahrungsort konnte nichts in Erfahrung gebracht werden.

Die Untersuchung selbst verlief in der folgenden Weise:

Von jeder Flasche oder Kapillare — es kamen 41 Flaschen flüssiger, 7 Flaschen fester Lymphe und 24 Kapillaren mit Lymphe zur Verwendung — wurden Platten gegossen und Röhrchen geimpft; die Platten waren gewöhnliche Gelatineplatten und zwar jedesmal drei Stück. Bei der Impfung auf Röhrchen wurden Strich- und Stichkulturen auf Agar und Hammelserum gemacht. Jede Lymphsorte wurde zur sicheren Kontrolle stets auf zwei Agarröhrchen und zwei Serumröhrchen verimpft. Die Röhrchen wurden dann im Brutschrank einer Temperatur von 37 ^{0} C. ausgesetzt und ebenso wie die Platten täglich nachgesehen. Während die Röhrchen mindestens 14—20 Tage im Brutschrank aufgehoben wurden, wurden die gegossenen Gelatineplatten nur ungefähr 8—10 Tage lang aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurden sie vernichtet. Ferner wurde, um die Untersuchungen möglichst vollständig zu machen, auch auf das eventuelle Vorhandensein von anaëroben Bakterien Rücksicht genommen und von jedem den übrigen Verfahren ausgesetzten Stoffe auch stets hohe Agarröhrchen hergestellt. Im Verlaufe der ganzen Untersuchung nun ergab sich das Resultat, dass alle Sorten Lymphe, bis auf den Inhalt eines Fläschchens, von der ältesten aus dem Jahre 1870 stammenden bis zur jüngsten von 1885 vollkommen bakterienfrei

waren. Bei dem nicht als rein befundenen Fläschchen handelte es sich um eine vom 6. Oktober 1874 stammende Lymphe, die sich weder durch besonderes Aussehen noch durch abweichende Reaktion auszeichnete. Der in ihr aufgefundene Bacillus war ein nicht Sporen bildender Wurzelbacillus; auf Tiere in der verschiedensten Weise übertragen, erwies er sich als absolut unschädlich.

Es wurde nun, nachdem die Keimfreiheit und damit die Ungefährlichkeit dieser ganzen Lymphserie für die Impfung am Menschen festgestellt war, beschlossen, den gesamten Impfstoff auch auf seine Virulenz zu erproben. Die ersten Impfungen damit nahmen die am Impfkurs sich beteiligenden Studierenden an sich selbst vor. Der Verlauf dieser Impfungen war in vielen Fällen ein reaktionsloser, in einigen Fällen aber bildete sich eine deutliche Entzündung aus mit geringer Knötchenbildung, die man bei einigem guten Willen als Impfpusteln ansprechen konnte. Allerdings muss erwähnt werden, dass die grosse Mehrzahl der Geimpften ihrer Militärpflicht bereits genügt hatten und dabei einer Revaccination unterzogen worden waren, woraus sich der negative Ausfall der jetzt wieder vorgenommenen Impfungen leicht hätte erklären lassen. Um genaue Resultate zu bekommen wurde daher die gesamte Lymphe auf Erstimpflinge verimpft und zwar so, dass mit jeder Sorte Lymphe mindestens zwei Impflinge geimpft wurden. Um nicht Gefahr zu laufen, dass man bei den Impfterminen allzuviel Fehlimpfungen bekäme, wurden die betreffenden Impflinge, die mit der untersuchten Lymphe geimpft waren, der Sicherheit halber noch mit frischer animaler Lymphe vacciniert. Die mit den verschiedenen Impfstoffen eingeriebenen Schnitte lagen in grösserer Entfernung von einander, um ein Verschmieren des Stoffes thunlichst zu vermeiden; auch lagen die mit frischer Lymphe geimpften Schnitte unterhalb der anderen, damit nicht die sicher virulente Lymphe in die

mit zweifelhaft virulentem Impfstoff getränkten Schnittflächen laufen konnte, und so etwa Pusteln vorgetäuscht würden. Bei den Nachschauterminen stellte sich heraus, dass weder eine Pustel noch überhaupt eine Reaktion durch die alte Lymphe erzeugt war, während die mit der frischen Lymphe eingeriebenen Schnitte vollen Erfolg gegeben hatten, ein sicherer Beweis dafür, dass die betreffenden Impflinge nicht infolge von Immunität auf die humanisierte alte Lymphe nicht reagiert hatten, sondern dass die Lymphe im Lauf der langen Zeit ihre Virulenz eingebüsst haben musste. Andererseits darf nicht unerwähnt bleiben, dass bei den Revaccinationen an Kindern im 12. Lebensjahre, die auf dieselbe Weise wie bei den Erstimpflingen ausgeführt wurden, sich mehrfach die gleichen Erscheinungen zeigten, wie bei den Impfungen an den Studierenden, deutliche Entzündungsreaktion mit mangelhafter Knötchenbildung.

Das Gesamtresultat der Untersuchungen über diese Sammlung alter Lymphe muss jedoch, von dem oben ausgeführten Gesichtspunkt betrachtet, dass nur der noch nicht immunisierte Körper eine genaue und zuverlässige Reaktion ergiebt, dahin formuliert werden, dass die Lymphe im Zeitraum von 11—26 Jahren zwar vollkommen bakterienfrei geworden war, zugleich aber ihre Virulenz verloren hatte. Es hatte sich somit an dieser Sammlung von Lymphe die von Chalybaeus geäusserte Ansicht von der Selbstreinigung der Lymphe durch lange dauernde Vermischung mit Glycerin zwar vollkommen bewährt, aber leider waren im Laufe der Zeit ausser den Bakterien auch die Erreger der Vaccine abgestorben.

Die Versuche können fernerhin für die Befestigung einer anderen Annahme, die in neuester Zeit mehr in Betracht gezogen wird, herangezogen werden. Nachdem Dr. Landmann in der Hyg. Rundschau 1895 und 1896 auf den hohen Bakteriengehalt der Lymphe aufmerksam gemacht hatte

und die bei den Impfungen in mehr oder weniger heftigem Masse sich einstellenden Entzündungen auf die Anwesenheit dieser Bakterien zurückgeführt wurden, so ging das Bestreben dahin, eine „keimfreie" Lymphe zu erzeugen, durch deren Gebrauch die in Frage kommenden Komplikationen vermieden werden könnten. Nach den Untersuchungen des Berliner Institutes für Infektionskrankheiten fielen, wie Frosch berichtet, die mit einer vollkommen bakterienfreien Lymphe gemachten Impfungen zu Ungunsten der Landmann'schen Annahme aus, da auch bei dieser bakterienfreien Lymphe Reizerscheinungen auftraten. Frosch erwähnt in seinem Berichte S. 4 einige Arten der in der Lymphe vorkommenden Bakterien und wenn er S. 5 sagt: „Es lag nahe diesen Bakterien der Lymphe, besonders den Eitererregern die vermehrten Reizerscheinungen nach der Impfung beizumessen. Thatsächlich ist dies auch bis in die jüngste Zeit von verschiedenen Autoren geschehen, ohne dass jedoch von irgend einer Seite der strikte Beweis für diese Auffassung erbracht ist" — so beweisen die Versuche des Verfassers vollkommen das Gegenteil jener Behauptungen und schliessen sich der Ansicht von Frosch an. Denn da die vom Verfasser untersuchte Lymphe absolut frei von allen Mikroorganismen war und doch Entzündungsreaktionen hervorrief, so kann bei anderer Lymphe die Gegenwart von Bakterien nicht allein die Schuld an den erwähnten Reizerscheinungen tragen; es können vielmehr entweder die Vaccineerreger selbst oder chemisch gelöste Stoffe, die allerdings sowohl von den Bakterien als auch von den Vaccineerregern stammen können, dafür verantwortlich gemacht werden. Ueberdies wird auch auf S. 37 zugegeben: „Eine beträchtliche Verringerung der Bakterien oder Keimfreiheit der Lymphe führt eine bemerkbare Abnahme der Reizerscheinungen nach Häufigkeit oder Intensität nicht herbei. Pyogene Eiterkokken wurden in völlig reizlosen Impfpusteln

nachgewiesen und Impfpusteln mit starken Entzündungsformen erwiesen sich als steril.“

Vorläufig ist es gelungen, besonders durch Centrifugieren eine grosse Reinheit der Lymphe und eine über Monate sich erstreckende Haltbarkeit zu erzielen, womit einerseits dem Wunsche, einer Infektionsgefahr möglichst auszuweichen, Genüge geleistet ist, andererseits den Anforderungen der Aerzte nach einem zu jeder Zeit verfüglichen virulenten, aber nicht sekundäre Entzündungen veranlassenden Material entsprochen worden ist.

Ob es gelingen wird, die selbst bei Verwendung keimfreier Lymphe entstehenden Reizerscheinungen zu vermeiden, muss die Zukunft lehren.

Litteratur.

Bareggi, C., Sui microbi specifici del vajuolo. Milano 1884.

Becker, H. T. v., Handbuch der Vaccinationslehre. 1879.

Beiträge zur Impfstatistik des Grossherzogtums Hessen. Darmstadt 1888. 28. Bd. Heft 3.

Boerner, P., Ueber Vaccination mit animaler und humanisierter Lymphe unter besonderer Berücksichtigung des Impferysipels. Separatabdruck aus der Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 5. 1882.

Bohn, H., Handbuch der Vaccination. Leipzig 1875.

Bousquet, J. B., Nouveau traité de la vaccine etc. Paris 1848.

Bremer, J. J., Die Kuhpocken. Berlin 1804.

Ceely, R., Observations of the variolae-vaccinae etc. Worcester 1840.

Fischer, Ueber Variola und Vaccine und Züchtung der Variola-Vaccine Lymphe. Münch. med. Wochenschr. Nr. 43. 1890.

Freund, M. B., Die animale Vaccination. Breslau.

Frosch, P., Bericht über die Thätigkeit der von dem Herrn Minister der geistlichen, Unterrichts- und Medizinal-Angelegenheiten eingesetzten Kommission zur Prüfung der Impfstoffrage. Berlin 1896.

Germann, Historisch-kritische Studien über den jetzigen Stand der Impffrage. Leipzig 1875.

Hygienische Rundschau 1891, 1895, 1896.

Mitteilungen, medizin.-statistische aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. Berlin 1884—1895.

Müller, Ed., Ueber Pockenimpfung und über die Bedeutung der Glycerinlymphe. Berlin 1866.

Pfeiffer, L., Die Vaccination, ihre experimentellen und erfahrungsgemässen Grundlagen und ihre Technik. Tübingen 1884.

Derselbe, Die bisherigen Versuche zur Reinzüchtung des Vaccinecontagiums und die Antiseptik der Kuhpockenimpfung. Separatabdruck aus der Zeitschrift für Hygiene. Bd. III. 1887.

Derselbe, Die Schutzpockenimpfung. Tübingen 1888.

Pohl-Pincus, J., Untersuchungen über die Wirkungsweise der Vaccination. Berlin 1882.

Reissner-Darmstadt, Ueber eine einfache Methode zur Aufbewahrung thierischen Impfstoffes. Deutsche med. Wochenschr. 1881.

Sacco, Luigi, Trattato di vaccinazione con quattro tavole. Milano 1809.

Schulz, M., Impfung, Impfgeschäft und Impftechnik. Berlin.

Voigt, L., Der Erfolg mit der animalen Vaccine in der Hamburger Impfanstalt. Leipzig 1879.

Derselbe, Vaccine und Variola. Vier Aufsätze in der deutschen Vierteljahrsschrift für öffentliche Gesundheitspflege. 1882.

Warlomont, E., Traité de la Vaccine et de la vaccination humaine et animale. Paris 1883.

Derselbe, Nouvelles recherches sur les origines de la vaccine. Académie de méd. 1883.